



N-glycosylation negatively regulates the expression of tumor necrosis factor (TNF) in mouse macrophage

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2025-09-12 キーワード: 作成者: 村上, 舞 メールアドレス: 所属:
URL	https://fmu.repo.nii.ac.jp/records/2002495

論 文 内 容 要 旨

しめい 氏名	むらかみ まい 村上 舞
学位論文題名	N-glycosylation negatively regulates the expression of tumor necrosis factor (TNF) in mouse macrophage (マウスマクロファージにおける TNF の N-グリコシル化は TNF 発現を抑制する)
<p>炎症性腸疾患 (inflammatory bowel diseases; IBD) は抗 TNF 抗体製剤が高い有効性を示すことから TNF が病態に深く関与すると考えられているが、少なからず治療抵抗例も存在し、新規治療法の開発が求められている。TNF シグナルにおいて、TNF 受容体下流の理解は飛躍的に進んだ。一方で、膜型 TNF は細胞膜で TNF-converting enzyme (TACE)により切断され遊離型 TNF となることが知られているが、TNF 産生機構の多くは未解明である。本研究では、マウス TNF の N-グリコシル化の生物学的役割を解明するとともに、TNF 発現制御機構の存在を明らかにすることを目的とした。はじめに、N86A, S87P, S88A の変異型 TNF 発現ベクターを用いてヒト胎児腎細胞株 HEK293T にマウス TNF を強制発現させたところ、いずれの変異型 TNF でも N-グリコシル化が阻害された。このことは、既報通りマウス TNF が Asn86 で N-グリコシル化修飾を受けることに加え、マウス TNF の N-グリコシル化にも Asn-X-Ser/Thr (X は Pro 以外の任意の amino 酸) の amino 酸配列 (sequon と呼ばれる) が必要であることを示している。続いて、N-グリコシル化の機能解析にあたり、マクロファージや樹状細胞などの TNF 産生細胞は遺伝子編集が難しいため、Tet-On システムを用いた誘導性 TNF 発現モデルを構築した。CRISPR/Cas9 システムを用いてマウスマクロファージ様細胞株 RAW264 の <i>Tnf</i> 遺伝子をノックアウトしたのち、Tet3G とマウス TNF を共発現させた。本モデルを doxycycline で刺激することにより、細胞および培養上清の両方で TNF の発現が誘導された。N86A 変異型 TNF では、野生型 TNF と比較して TNF mRNA レベルは変化せずに培養上清中と細胞の TNF タンパク発現が亢進した。このことから、マウス TNF の N-グリコシル化が TNF の発現を転写後の段階で制御することが明らかとなった。以上より、Tet-On システムを用いた誘導性 TNF 発現モデルは TNF 産生機序の解明に有用であることが示唆された。さらに、TNF の N-グリコシル化を介した産生制御機構の存在が明らかとなり、本研究が TNF を起点とした IBD の病態解明および新規治療開発の基盤となることが期待される。</p>	

※日本語で記載すること。1200字以内にまとめること。

学位論文審査結果報告書

令和7年2月28日

大学院医学研究科長 様

下記のとおり学位論文の審査を終了したので報告いたします。

記

学位申請者氏名 村上 舞

学位論文題名 N-glycosylation negatively regulates the expression of tumor necrosis factor (TNF) in mouse macrophage

(マウスマクロファージにおける TNF の N-グリコシル化は TNF 発現を抑制する)

審査結果要旨

本研究は、炎症性腸疾患 (IBD) の病態形成において深く関与している TNF のタンパク質発現制御機構を、マウス TNF の N-グリコシル化に着目して解明することを目的としたものである。申請者は、N86A、S87P、S88A の変異型 TNF 発現ベクターを用いたリコンビナントタンパク質の解析で、マウス TNF Asn86 が N-グリコシル化修飾を受けることを示した。さらに、Tet-On システムを用いた誘導性 TNF 発現モデルを構築し、*Tnf* 遺伝子をノックアウトしたマウスマクロファージ様細胞株 RAW264 に Tet3G とマウス TNF を共発現させた解析で、野生型 TNF と比較して N86A 変異型 TNF では、TNF mRNA レベルは変化せずに培養上清中と細胞内の TNF タンパク質発現が亢進することを示した。以上の結果から、マウス TNF のタンパク質発現は、TNF Asn86 の N-グリコシル化によって転写後の段階で制御されることが明らかになった。

本研究では、これまで解明が進んでいなかった TNF タンパク質発現に、N-グリコシル化による制御機構が存在することを初めて示したものであり、本研究が TNF を起点とした IBD の病態解明と新規治療開発の基盤となることが期待される。

よって、本学位申請論文は学位授与に値すると判断された。

論文審査委員 主査 関根 英治
副査 苅谷 慶喜
副査 東 智仁